Die automatische Bestimmung von anorganischem Sulfat in Serum und Harn

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Werner Barth

Saarbrücken

1971

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

AUS DER UROLOGISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT
DES SAARLANDES
Direktor: Professor Dr. med. C. E. Alken

DIE AUTOMATISCHE BESTIMMUNG VON ANORGANISCHEM SULFAT IN SERUM UND HARN.

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1970

vorgelegt von
Werner BARTH
geb. am 28. 2. 1945 in Bad Neustadt

Dekan: Professor Dr. med. H. Kulenkampff

Referent: Professor Dr. med. G. Gundlach

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promotionsdatum: 1.3.1971

INHALT

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. PROBLEMSTELLUNG	4
C. METHODEN DER SULFATBESTIMMUNG UND BRAUCHBARKEIT IM HINBLICK AUF DIE AUTOMATISIERUNG	5
1) gravimetrische Sulfatbestimmung	5
2) konduktometrische oder potentiometrische Sulfatbestimmung	5
3) indirekt titrimetrische Sulfatbestimmung	6
4) kolorimetrische Sulfatbestimmung	6
5) nephelometrische Sulfatbestimmung	7
D. MATERIAL UND METHODEN	8
1) Reagenzien	8
2) Lösungen	8
3) Geräte	9
4) Vorversuche der Sulfatbestimmung	12
5) Automatisierung der Sulfatbestimmung	12
6) Kreatinin und Harnstoffbestimmung	15
7) Statistische Methoden	15

E. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE 20

I Vorversuche 20

1) Einfluß der Reagenzien 20

a) Gelatine 20

b) Bariumchlorid 21

2) Abhängigkeit der Trübung von der Reaktionszeit 22

3) Trübungsmessung bei verschiedenen Wellenlängen 23

II Automatisierte Durchführung der Sulfatbestimmung 25

III Ergebnisse der automatischen Sulfatbestimmung 30

1) Reproduzierbarkeit des Verfahrens 30

2) Normale Konzentration des anorganischen Serumsulfats 32

3) Beziehung zwischen Serumkreatinin und Serumsulfat 34

4) Beziehung zwischen Serumharnstoff und Serumsulfat 41

F. ZUSAMMENFASSUNG 43

G. LITERATUR 44

A. EINLEITUNG

In fast jedem Labor werden heute im Rahmen der Bestimmung der Serumelektrolyte neben Natrium, Kalium und Calcium als Kationen, Chlorid und auch Phosphat als Anionen bestimmt. In vergleichbarer Konzentration ist im Serum das anorganische Sulfat enthalten. Es wird über die Nieren durch den Harn ausgeschieden. Auch hier sind die Sulfatmengen etwa so groß wie die Ausscheidungen an Phosphat oder Kalium.

Das Sulfat gehört im Ionogramm zur Restfraktion und wird im Labor gewöhnlich nicht bestimmt. Dies liegt im wesentlichen daran, daß bis zur Einführung der turbidimetrischen bzw. nephelometrischen Bestimmung des Sulfats die zur Verfügung stehenden Methoden zeitraubend und umständlich waren.

In der Literatur gibt es aber immer wieder Hinweise auf die diagnostische Bedeutung des Serumsulfatspiegels für die Beurteilung der Nierenfunktion. Noch bevor andere Untersuchungen eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion anzeigen, soll das Serumsulfat in erhöhter Konzentration vorliegen (28, 30). Zumindest soll Parallelität zwischen Stickstoffretinierung und Hypersulfatämie bestehen (10, 18).

Verschiedene Faktoren bestimmen die Höhe des Serumsulfatspiegels

und der Sulfatausscheidung:

1.) Die nahrungsabhängige Zufuhr von Schwefelverbindungen

Hierbei hat die Zufuhr von anorganischen Sulfaten und Sulfiden infolge der geringen enteralen Resorption keinen großen Einfluß auf den Serumsulfatspiegel, zumindest nicht bei normalem Sulfatgehalt der Nahrung (14). Die größere Bedeutung hat der organisch gebundene Schwefel, der hauptsächlich mit den schwefelhaltigen Aminosäuren Cystin und Methionin der Proteine aufgenommen wird. Beim Abbau dieser Aminosäuren kann im Intermediärstoffwechsel Sulfat entstehen. Ein Teil des gebildeten Sulfats wird bei Entgiftungs- oder Inaktivierungsreaktionen als Sulfatester ausgeschieden, der andere Teil bildet den Nachschub für das Serumsulfat (23).

2.) Die Ausscheidungsleistung der Nieren

Anorganisches Sulfat wird über die Nieren proportional zur Serumkonzentration ausgeschieden. Zwischen 60 und 80 % des glomerulär filtrierten Sulfats werden tubulär reabsorbiert. Es resultiert damit eine Sulfatclearance zwischen 25 und 40 ml/min. (8, 9, 14, 16). Sulfat wird, zumindest teilweise, über den gleichen Mechanismus tubulär reabsorbiert wie Phosphat,

Acetacetat und Glukose (6). Eine maximale Transportkapazität T_m läßt sich nachweisen, ist jedoch starken Schwankungen unterworfen (1). Damit wird Sulfat zu einem renalen Retentionsstoff bei Niereninsuffizienz (18).

3.) Die Zufuhr von löslichem anorganischem Sulfat

Nach oralen Gaben von Natriumsulfat werden 95 % innerhalb weniger Tage ausgeschieden, die Hauptmenge wird schon in den ersten 24 Stunden über die Nieren eliminiert (14). Für therapeutische Zwecke werden gelegentlich größere Mengen löslicher Sulfate parenteral verabreicht. CHAKMAKJIAN und BETHUNE (5) infundierten innerhalb von 9 Stunden 117 g Natriumsulfat, um bei bestehenden Hypercalciämien den Calciumspiegel zu senken und die Calciumausscheidung zu fördern (z. B. bei Vorliegen eines Hyperparathyreoidismus).

B. PROBLEMSTELLUNG

Unter Berücksichtigung bekannter Verfahren sollte nach Möglichkeit eine einfache, reproduzierbare, schnelle und für größere Serien geeignete Methode der Sulfatbestimmung in Serum und physiologischen Flüssigkeiten gesucht und in der automatisierten Form auf ihre Zuverlässigkeit geprüft werden.

In bezug auf parallel durchgeführte Vergleichsbestimmungen von Serumkreatinin und Serumharnstoff sollte ein Normalwert für die Serumsulfatkonzentration gefunden und mit Literaturwerten verglichen werden.

C. METHODEN DER SULFATBESTIMMUNG UND BRAUCHBARKEIT IM HINBLICK AUF DIE AUTOMATISIERUNG

Die zahlreichen in der Literatur beschriebenen Methoden zur Bestimmung des anorganischen Sulfats gehen im Prinzip auf die nachstehend angeführten Verfahren zurück:

1.) Die gravimetrische Bestimmung des Sulfats

Sie gründet auf der Fällung des Sulfats als unlösliches Bariumsulfat (20, 29).

2.) Die konduktometrische (24) oder potentiometrische (9, 21) Sulfatbestimmung

Als Beispiel sei die Methode von CORTELLESSA und NAPOLI angeführt: Das Sulfat wird nach Zufügen von Natriumhexacyanoferrat (II) und Natriumhexacyanoferrat (III) mit Bleinitrat potentiometrisch titriert. Am Äquivalenzpunkt fällt Bleihexacyanoferrat (II) aus. Dies ist mit einer Änderung des Potentials der Meßelektrode verbunden, die zur Endpunktbestimmung dient (9).

3.) Ein indirekt titrimetrisches Sulfatbestimmungsverfahren

Es wird von COPE angegeben (7). Die Probe wird mit Benzidin in Aceton versetzt. Der entstehende Niederschlag wird gewaschen und getrocknet, anschließend in destilliertem Wasser gelöst. Die Titration erfolgt mit Natronlauge in Anwesenheit von Phenolphthalein als Indikator. Der letzte Teil der Titration wird bei 100° C durchgeführt.

Wegen der technischen Schwierigkeiten scheiden diese gravimetrischen, konduktometrischen, potentiometrischen und titrimetrischen Methoden für die Automatisierung aus.

4.) Die kolorimetrische Bestimmung des Sulfats

Sie beruht auf der Fällung des Sulfats mit Bariumchloranilat. Proportional zum gebildeten Bariumsulfat geht das gefärbte Chloranilation in Lösung. Seine Extinktion wird photometrisch bestimmt (17). Durch die Notwendigkeit zur Abtrennung des ausgefällten Bariumsulfats und durch die Schwerlöslichkeit des Bariumchloranilats ist die Automatisierung der Bestimmung zwar aufwendig, aber durchführbar (15). Störend wirkt sich bei diesem Verfahren aus, daß die optische Dichte der Lösung bei der gewöhnlich benutzten Wellenlänge von 327 nm von ihrer Ionen-

konzentration beeinflußt wird. Da die Natriumionenkonzentration von Serum zu Serum und Harn zu Harn erheblich schwanken kann, wird auf diese Weise ein nicht mehr akzeptierbarer Fehler in die Bestimmung des Sulfats in physiologischen Flüssigkeiten gebracht (26).

5.) Nephelometrische bzw. turbidimetrische Bestimmungsverfahren

Sulfat läßt sich mit 4-Amino-4'-chlorodiphenylhydrochlorid ausfällen. Die Trübung der mit Gummighatti stabilisierten Suspension kann gemessen werden (22). Da Phosphat die Bestimmung stört, besteht die Notwendigkeit seiner vorherigen Abtrennung. Für biologische Materialien ist dies unerläßlich und somit zusätzlich erschwerend. Das Reagenz 4-Amino-4'-chlorodiphenyl ist auch für eine titrimetrische (2) und eine spektrophotometrische Bestimmung (19) genutzt worden.

Frei von den angeführten Mängeln ist die turbidimetrische Bestimmung des ausgefällten Bariumsulfats. Durch Zugabe eines Schutzkolloids wird die Suspension des Bariumsulfatniederschlages stabilisiert. Die auftretende Trübung ist in gewissen Grenzen der Sulfatkonzentration proportional. Dieses von BERGLUND und SÖRBO (4) angegebene Verfahren dient als Grundlage der folgenden Untersuchungen.

D. MATERIAL UND METHODEN

1.) Reagenzien

Bariumchlorid p. a. (Merck 1719)

Gelatine (Oxoid Ltd., London SE 1, code nr. L 8)

Trichloressigsäure krist. (Merck 810)

Salpetersäure, mind. 65 % p. a. (Merck 454)

Natriumsulfat wasserfrei p. a. (Merck 6649)

2.) Lösungen

0,5 %ige Bariumchloridlösung in Gelatine

1 g Oxoidgelatine wird bei 60 - 70° C in 200 ml dest. Wasser gelöst, anschließend wird 1 g Bariumchlorid zugefügt.

4 %ige Trichloressigsäure.

Salpetersäure, etwa 0,33 N

25 ml konz. Salpetersäure werden mit dest. Wasser auf einen Liter aufgefüllt.

Eichlösungen verschiedener Sulfatkonzentration: 5 mval/l, 3,5 mval/l, 2,5 mval/l, 1,5 mval/l, 1 mval/l, 0,75 mval/l, 0,5 mval/l.

Stammlösung mit 5 mval/l Sulfat: 355 mg Natriumsulfat

werden in 1 l dest. Wasser gelöst. Die Stammlösung wird nach folgendem Schema verdünnt:

Stammlösung	dest. Wasser	mval/l Sulfat
100 ml	0 ml	5 mval/l
70 "	30 "	3,5 "
50 "	50 "	2,5 "
30 "	70 "	1,5 "
20 "	80 "	1 "
15 "	85 "	0,75 "
10 "	90 "	0,5 "

3.) Geräte

Zum Aufbau der Autoanalyzereinheit dienen folgende Geräte:

a. Probennehmer

Die Aufnahme der Probe erfolgt durch einen "Technicon Autoanalyzer-Sampler". Der Probennehmer versorgt das Autoanalyzer System automatisch mit Proben, Eichlösungen und Spülflüssigkeit (Wasser) in festgelegter Reihenfolge und variablen Zeitabständen.

b. Schlauchpumpe

Die Förderung und Proportionierung der Proben und Reagenzien wird durch eine "Technicon Autoanalyzer Pump" versehen. Die Pumpe fördert bei konstanter Geschwindigkeit definierte Flüssigkeitsmengen in Abhängigkeit vom Pumpschlauchlumen. Die Wandstärke aller Schläuche ist konstant und identisch.

c. Dialysator

Die Enteiweißung des Serums wird in einem "Technicon Autoanalyzer Dialyzer" vorgenommen. Da die Ausbeute an Dialysat von der Temperatur abhängig ist, wird die Temperatur im Dialysator über einen Thermostaten automatisch konstant gehalten. Die Dialyse erfolgt kontinuierlich durch eine Cellophanmembran mit einer Porengröße von 40 - 60 Angström.

d. Mischspirale

Nach Verlassen des Dialysators wird das Dialysat mit dem Reagenz zusammengebracht. Die Mischung erfolgt in einer waagerecht liegenden Glasspirale.

e. Verzögerungsspirale

Um eine ausreichende Reaktionszeit zu gewährleisten, wird die Dialysat-Reagenzmischung durch die Glasspirale eines "Technicon Autoanalyzer Heating Bath" geleitet.

f. Fluorometer

Das Streulicht wird mit einem Turner Fluorometer, Modell 111, gemessen (statt eines Fluorometers kann auch ein Photometer als Trübungsmesser benutzt werden). Das Licht einer Quecksilberdampflampe fällt durch ein Filter auf eine Durchflußküvette. Das im rechten Winkel ausfallende Streulicht wird, durch ein Graufilter auf 10 % seiner Intensität abgeschwächt, gemessen. Als Filter für das einfallende Licht wurde das Corningfilter 7-60 mit einem Durchlässigkeitsmaximum zwischen 360 - 366 nm gewählt.

g. Kompensationsschreiber

Zur Registrierung der Meßwerte wird ein Servogor RE 511 Kompensationsschreiber benutzt.

h. Verbindungsschläuche

Zur Förderung von Proben und Reagenzien werden Tygon -

schläuche der Firma Technicon verwendet. Die Verbindung einzelner Systeme erfolgt durch PVC-, Tygon- oder Silikonschläuche.

4.) Vorversuche zur Sulfatbestimmung

In Abwandlung der von BERGLUND und SÖRBO (3) gegebenen Vorschrift werden 0,2 ml der zu untersuchenden Probe (zunächst Eichlösungen enthaltend 0,5 - 5,0 mval/l Sulfat) mit 3,8 ml Trichloressigsäure versetzt. Ein entsprechender Niederschlag wird zentrifugiert, 2 ml des Überstandes werden mit 0,5 ml Bariumchlorid-Gelatine versetzt.

Die auftretende Trübung wird in einem Zeiß-Spektralphotometer PM Q 2 in 1 cm Schichtdicke bei der jeweils angegebenen Wellenlänge gemessen.

5.) Automatisierung der Sulfatbestimmung

Aus dem Fließschema der Abbildung 1 geht hervor, daß die zu analysierende Probe (0,4 ml pro Minute) mit Wasser zunächst auf das

5-fache verdünnt einer Dialysatoreinheit zugeführt wird. Dieser Lösung parallel läuft ein Strom der 0,3 N Salpetersäure, die nach Durchfließen des Dialysators mit Bariumchlorid-Gelatine (1,2 ml/ Minute) versetzt wird. Die Gesamtlösung wird durch eine Misch- und eine Verzögerungsspirale geführt, bis ein Teil (1,2 ml/Minute) zur Trübungsmessung durch die Küvette des Fluorometers gesaugt wird. Der Überschuß wird zusammen mit den begleitenden Luftblasen verworfen und direkt in den Ausguß geführt. Pro Stunde können 50 Proben aufgenommen werden.

Zur Erstellung einer Eichkurve laufen vor den Proben Eichlösungen mit abnehmender Sulfatkonzentration; den Proben folgen Eichlösungen mit zunehmender Konzentration. Die Eichkurve wird aus den Werten für die absteigende und die aufsteigende Reihe der Eichlösungen gemittelt.

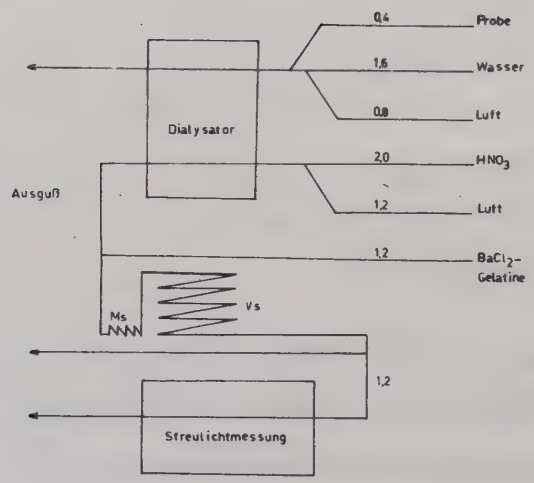

Abb. 1: Fließschema der Autoanalyzereinheit

Die Zahlenangaben beziehen sich auf die pro Minute geförderte Reagenz- oder Probenmenge in ml. Die Pumpschläuche entsprechen dem Technicon-Autoanalyzer-System.

Ms = Mischspirale, Vs = Verzögerungsspirale

6.) Kreatinin und Harnstoffbestimmungen

Die Bestimmungen des Kreatinins und des Harnstoffs erfolgten simultan in einem 2-Kanal-Autoanalyzer (27). Für die Bestimmung des Kreatinins wird der Farbkomplex nach Reaktion des Kreatinins mit alkalischer Pikratlösung in einer Modifikation nach Jaffe herangezogen. Der Harnstoff bildet in Gegenwart von saurem Eisenalaun mit Diacetylmonoxim durch eine oxidative Kondensationsreaktion ein gefärbtes Triazinderivat, das bei 480 nm colorimetrisch erfaßt werden kann.

7.) Statistische Methoden (11, 12)

Die statistische Auswertung der Meßergebnisse erfolgt unter der Annahme, daß diese einer "Normalverteilung" unterliegen.

Standardabweichung

Zur Bestimmung der Standardabweichung s wird zunächst der arithmetische Mittelwert $\bar{x}$ der Meßwerte aus N Messungen gebildet:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots x_n}{N}$$

Die Differenzen der einzelnen Meßwerte x_i zum Mittelwert $\bar{x}$ werden quadriert und summiert. Die Standardabweichung s ist dann definiert durch

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

N - 1 = Zahl der Freiheitsgrade

Zum Arbeiten mit der Rechenmaschine wird folgende Umformung benutzt

$$s = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - N\bar{x}^2}{N - 1}}$$

Obwohl sie als Wurzelausdruck doppeltes Vorzeichen besitzt, wird die Standardabweichung als Kennziffer für die Breite der Gauß'schen Verteilungskurve nur dem Betrage nach angegeben.

Der Variationskoeffizient

$$v = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\ (\%)$$

entspricht der mit dem Mittelwert als Einheit bestimmten prozentualen Abweichung.

Zur Prüfung eines Zusammenhanges zwischen der Serumsulfatkonzentration einerseits und dem Kreatinin- beziehungsweise Harnstoffspiegel des Serums andererseits, wird der Korrelationskoeffizient berechnet.

Der Korrelationskoeffizient r gibt an, ob zwischen zwei betrachteten Größen x und y eine Gesetzmäßigkeit besteht. Er liegt im Bereich $-1 \leq r \leq +1$.

Bei r = 0 besteht zwischen den Variablen keine Abhängigkeit, während r = 1 einen sicheren funktionellen Zusammenhang bedeutet. Bei r = -1 besteht ebenfalls eine sichere funktionelle, jedoch gegensinnige Abhängigkeit. Je näher r an $\pm$ 1 kommt, desto straffer ist der beobachtete Zusammenhang.

Nimmt man eine lineare Abhängigkeit der beiden betrachteten Größen an, so ergibt sich:

$$r = \frac{N\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{\left[N\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2\right]\left[N\sum y_i^2 - (\sum y_i)^2\right]}}$$

oder nach Umrechnung

$$r = \frac{\sum x_i y_i \quad - \quad \bar{x} \sum y_i}{\sqrt{(\sum x_i^2 \quad - N\bar{x}^2) \quad (\sum y_i^2 \quad - N\bar{y}^2)}}$$

Der Korrelationskoeffizient wird stets geprüft, ob er signifikant von 0 abweicht. Dazu bildet man

$$t = \frac{|r|}{\sqrt{1 - r^2}} \cdot \sqrt{N - 2}$$

Eine Abhängigkeit unter allen Größen x und y ist gesichert, wenn

$t > t\ (P, n)$ $(n = N - 2)$

Die Vertrauensgrenzen des Korrelationskoeffizienten werden nach "Normalisierung" über die z-Transformation nach R. A. FISHER bestimmt.

$$\text{Prob.}\left[\tanh\left(z - \frac{|c_\alpha|}{\sqrt{n - 3}} \right) \leq r \leq \tanh\left(z + \frac{|c_\alpha|}{\sqrt{n - 3}} \right) \right] = 1 - 2\alpha$$

Diese Funktion liegt errechnet in den Geigy-Tabellen vor.

(6. Auflage S. 62-64)

Regression

Die empirische Funktion $y=f(x)$ läßt sich mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten r in Form der Regressionsgeraden $y = a+bx$ berechnen.

Es ist

$$b = r \sqrt{\frac{\sum y_i^2 - N\bar{y}^2}{\sum x_i^2 - N\bar{x}^2}}$$

der Achsenabschnitt ist

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

als Standardabweichungen für a und b erhält man

$$s_b = \frac{s}{\sqrt{x_i^2 - N\bar{x}^2}}$$

$$s_a = s_b \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{N}}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum y_i^2 - N\bar{y}^2 - b^2 (\sum x_i^2 - N\bar{x}^2)}{N - 2}}$$

E. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

I. VORVERSUCHE

Sie dienen zur Ermittlung der günstigsten Reaktionsbedingungen im Hinblick auf die automatisierte Bestimmung des Sulfats. Im übrigen wurde das von BERGLUND und SÖRBO beschriebene Verfahren übernommen. Die Autoren untersuchten auch den Einfluß von Störsubstanzen auf die Bestimmung (4).

1.) Der Einfluß der Reagenzien

a) Gelatine

Käufliche Gelatinen weisen einen stark wechselnden Sulfatgehalt auf. Handelsübliche Haushaltsgelatine hat einen so hohen Sulfatgehalt, daß eine reproduzierbare Bestimmung unmöglich wird. Andererseits ist die Bildung von Kristallisationskeimen durch das Sulfat in der Gelatine nach Zugabe des Bariumchlorids erwünscht. Die Reaktionszeiten zur Bildung der maximalen Trübung bleiben kurz. Eine Übersättigung der Lösung und damit verminderte Trübung werden vermieden.

Die Gelatine dient zur Stabilisierung der Kristallsuspension. Sie soll das Sedimentieren des Bariumsulfates während der Be-

stimmung verhindern, zugleich aber keine hohe Viskosität des Reaktionsansatzes verursachen und außerdem als Reagenzlösung selbst gut dosierbar sein.

Es erweist sich als nicht zweckmäßig, die Gelatinekonzentration über 0,5 % zu steigern. Eine Erhöhung dieses Reagenzanteils im Versuchsansatz bewirkt eine kleiner werdende Empfindlichkeit. Geringere Konzentrationen führen zur Instabilität der Bariumsulfatsuspension.

Die Reproduzierbarkeit der Einzelmessungen war am besten bei Verwendung der Oxoid-Gelatine (genaue Bezeichnung siehe S. 8). Von Difco und von Serva gelieferte Produkte hatten entweder zu hohe Sulfatkonzentrationen oder wiesen geringere Stabilität der Bariumsulfatsuspension auf.

Es ist ratsam, sich von einer gut geeigneten Gelatinecharge einen größeren Vorrat anzuschaffen.

b) Bariumchlorid

Der Überschuß an Bariumchlorid, berechnet auf das Serumsulfat, ist 25 - 30fach. Damit dieses Verhältnis auch bei der Bestimmung des Sulfats im Harn aufrechterhalten bleibt, muß dieser um etwa das 25fache verdünnt werden.

2.) Die Abhängigkeit der Trübung von der Reaktionszeit

Nach Zusatz des Bariumchlorid-Gelatine-Reagenz zur Probe dauert es, wie aus der Abbildung 2 hervorgeht, etwa 20 Minuten, bis die Trübung vollständig ist.

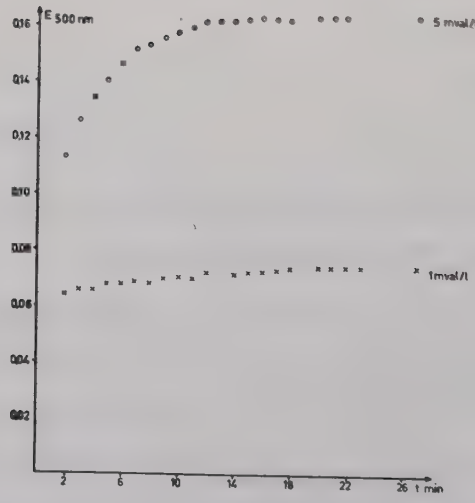

Abb. 2: Abhängigkeit der "Trübung" von der Reaktionszeit

3.) Trübungsmessung bei verschiedenen Wellenlängen

Es wurde die Verwendbarkeit von Wellenlängen zwischen 360 und 550 nm geprüft. Zu diesem Zweck wurden Eichkurven bei verschiedenen Wellenlängen aufgestellt. Nach Abbildung 3 besteht, bei Messungen mit Licht einer Wellenlänge zwischen 360 und 500 nm, eine lineare Abhängigkeit zwischen Sulfatkonzentration und Trübung. Oberhalb 500 nm geht diese Linearität langsam verloren. Die Steigung der Eichkurve nimmt bei Messungen mit abnehmender Wellenlänge zu. Hieraus ergibt sich eine höhere Meßempfindlichkeit bei Verwendung kürzerer Wellenlängen.

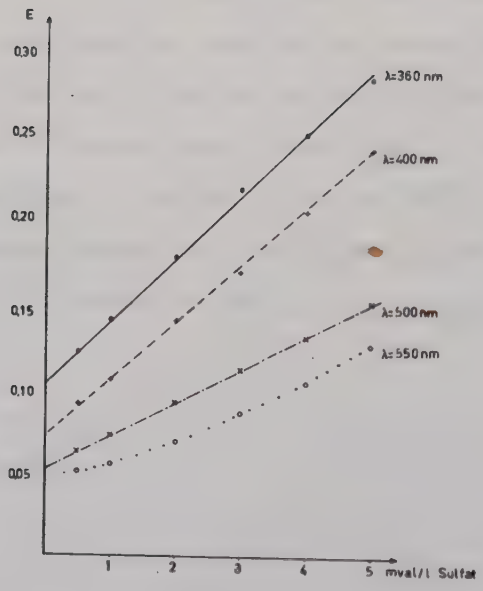

Abb. 3: Eichkurven der Trübungsmessungen bei verschiedener Wellenlänge im PMQ 2 der Firma Zeiß

II. AUTOMATISIERTE DURCHFÜHRUNG DER SULFATBESTIMMUNG

In erster Annäherung werden bei der Automatisierung die gleichen Mischungsverhältnisse der Reagenzien wie bei der manuellen Methode verwendet (vergl. S. 12). Dort war bereits in Abwandlung der von BERGLUND und SÖRBO gegebenen Vorschrift (3, 4) die Menge erforderlichen Serums drastisch reduziert (statt 4 ml nur 0,2 ml) und damit mehr an das von DOGSON (13) angegebene Verfahren angepaßt worden.

Zusätzlich wurde berücksichtigt, daß während der Dialyse etwa 30 - 40 % der eingesetzten dialysablen Substanzen die Membran passieren und damit der Analyse zur Verfügung stehen. Da der relative Anteil des dialysierenden Sulfats stets konstant bleibt, ist eine genaue Bestimmung desselben nicht erforderlich. Zur Korrektur der für die Analyse zur Verfügung stehenden Substanzmenge wurde die eingesetzte Serummenge vergrößert (0,4 ml/min). Statt Trichloressigsäure wurde verdünnte Salpetersäure verwendet, da die Trichloressigsäure zur Proteinfällung im Dialysator geführt hätte.

Die Verwendung von Salzsäure entsprechender Konzentration

ist ebenfalls möglich, wurde aber hier im Hinblick auf eine parallel durchgeführte Bestimmung des Serumchlorids unterlassen.

Die Enteiweißung durch Dialyse hat im Vergleich zur manuellen Methode den Vorteil, daß keine Sulfatabsorption an Trichloressigsäure- oder Uranylacetateiweißniederschläge erfolgen kann. Außerdem vermögen hohe Trichloressigsäurekonzentrationen eine Verminderung der Trübung hervorzurufen (3).

Eine Bestimmung des Sulfates ohne Abtrennung der Serumeiweiße ist nicht möglich, da mit dem Reagenz sofort Niederschlagsbildung erfolgt. Ein von Technicon angegebenes Verfahren (27) für Trinkwasseranalysen läßt sich somit nicht direkt übernehmen.

Ein Vorteil der automatisierten Bestimmung über die Handmethode ist die konstante Acidität der Analysenlösung, die damit unabhängig von der verwendeten Probe (Serum oder Harn) wird.

Wie aus dem Fließdiagramm der Abb. 1 hervorgeht, erwies es sich als nützlich, die Menge des Bariumchloridgelatinereagenzes relativ zu erhöhen. Eine bessere Reproduzierbarkeit wurde damit erreicht.

Reagenz und nachzuweisendes Sulfat haben in der beschriebenen

Anordnung 9 Minuten Zeit, miteinander zu reagieren. Nach Abbildung 2 sind dann bereits 95 % der endgültigen Trübung erreicht. Es ist bekannt, daß in der vorliegenden Form automatisierte Verfahren weitgehend unabhängig sind von der quantitativen Farbausbeute (bzw. Trübung), weil eine große Konstanz der Reaktionszeit erreicht wird. Doch ist es mit Sicherheit nützlich, nicht im steilsten Anstieg der Trübungsbildung zu messen. Außerdem wird eine größere Empfindlichkeit erreicht.

Die Streulichtmessung erfolgt bei 366 nm aus zwei Gründen:

1) Die Hauptstrahlungsintensität der verwendeten Quecksilberdampflampe liegt bei dieser Wellenlänge.

2) Wie aus Abbildung 3 hervorgeht, ist die gemessene Trübung bei 360 nm um 47 % höher als bei 500 nm und noch um 8 % höher als bei 400 nm.

Bei der Streulichtmessung ist die Lichtausbeute nicht streng der Konzentration proportional. Die Eichkurve flacht mit höheren Sulfatkonzentrationen ab. Vergl. Abbildungen 4 und 5.

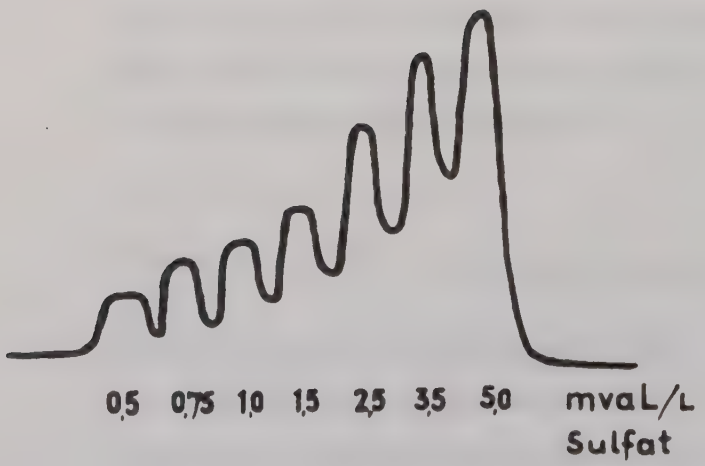

Abb. 4: Beispiel einer Eichkurve

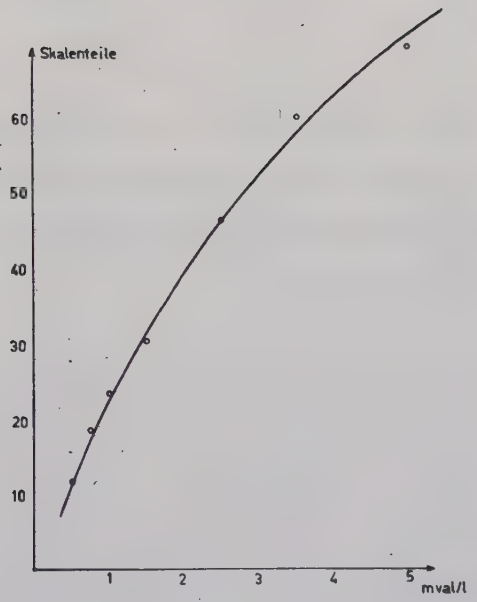

Abb. 5: Abhängigkeit des Streulichts von der Sulfatkonzentration

III. ERGEBNISSE DER AUTOMATISCHEN SULFATBESTIMMUNG

1.) Reproduzierbarkeit des Verfahrens

Um die Zuverlässigkeit des Verfahrens zu testen, wurde die Reproduzierbarkeit innerhalb der Serie und von Tag zu Tag untersucht (Tab. 1).

Zur Prüfung der Reproduzierbarkeit in der Serie wurde das Sulfat in zusammen 123 Proben bestimmt. Diese Werte wurden in drei etwa gleichen Serien eingeteilt und der gefundene Mittelwert jeder Serie bestimmt.

Bei einer Sulfatkonzentration von 1 mval/l ergab sich eine mittlere Standardabweichung $s = 0,04$ und ein Variationskoeffizient $V = 4\ \%$. Bei höheren Sulfatkonzentrationen wird der Variationskoeffizient zwangsläufig kleiner, da die Standardabweichung etwa gleich bleibt. Eine Drift läßt sich nicht beobachten.

Bei der Prüfung der Reproduzierbarkeit von Tag zu Tag, die über 10 Tage geführt wurde, ergibt sich, bei jeweils 20 Proben, eine mittlere Standardabweichung $s = 0,043$ und ein Variationskoeffizient $v = 4,3\ \%$. Bei allen Messungen wurde derselbe Reagenz-Ansatz verwendet.

Tab. 1: Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit innerhalb der Serie und von Tag zu Tag (n = 20/Tag)

Probe	Gefundener Mittelwert mval Sulf./l	s mval/l	V %
1 - 50	1,001	0,036	3,6
51 - 102	0,999	0,045	4,5
103 - 123	1,000	0,039	3,9
1 - 123	1,00	0,040	4,0
Tag			
1	0,99	0,042	4,24
2	1,01	0,029	2,87
3	0,98	0,052	5,31
4	1,01	0,045	4,46
5	0,99	0,041	4,11
6	1,00	0,044	4,40
7	1,01	0,048	4,75
8	0,98	0,041	4,08
9	1,01	0,056	5,57
10	1,02	0,037	3,65
	1,00	0,0435	4,344

Ein Reagenz-Ansatz kann etwa zwei Wochen benutzt werden. Danach sollte wegen der mikrobiellen Zersetzung der Gelatine, die auch am Geruch leicht zu erkennen ist, ein frischer Reagenz-Ansatz genommen werden. Heparinisierte Blutproben dürfen nicht untersucht werden, da Heparin die Sulfatbestimmung stört (4). Andere im Serum natürlich vorkommende Substanzen stören die Bestimmung nicht, einschließlich etwa vorhandener Sulfatester. Lediglich bei Erhöhung der Phosphatkonzentration im Serum auf über 10 mval ist eine Beeinflussung der Sulfatbestimmung zu erwarten. Der Fehler bleibt aber zunächst im Bereich des Variationskoeffizienten (4).

2.) Normale Konzentration des anorganischen Serumsulfats

Um einen Mittelwert der Serumsulfatkonzentration bei normaler Nierenfunktion zu gewinnen, wurde das anorganische Serumsulfat bei 161 Patienten mit Serumkreatininwerten bis 1,2 mg% bestimmt. Es ergibt sich eine mittlere Serumsulfatkonzentration von 0,74 mval/l, mit einer Standardabweichung $s = 0,17$ und einem Variationskoeffizienten $v = 23,2\ \%$. Hieraus resultiert für das Serumsulfat bei Berücksichtigung der doppelten Standardabweichung ein Normalbereich von

0,40 - 1,08 mval/l. Diese Werte entsprechen den in der Literatur angegebenen Werten (Tabelle 2), die alle an kleineren Kollektiven gewonnen wurden.

Tab. 2: Normale Konzentration des anorganischen Serumsulfats beim Menschen

Autor	Sulfat mval/l	Anzahl der Untersuchungen	Methode
LOEB & BENEDIKT	0,4 - 0,7 - 1,0	13	1927 gravimetrisch
STURM & POTHMANN	0,65 - 0,97 - 1,28	16	1940 stufenphotometrisch (25)
BERGLUND & SÖRBO	0,42 - 0,66 - 0,96	10	1960 nephelometrisch
BECKER et al.	0,42 - 1,2 - 2,0	31	1960 volumetrische Benzidinmethode
HÄNZE	0,49 - 0,75 - 1,01	25	1966 nephelometrisch
eigene Werte	0,40 - 0,74 - 1,08	161	1970 nephelometrisch

3.) Beziehung zwischen Serumkreatinin und Serumsulfat

Zur Feststellung der Korrelation zwischen Serumkreatinin und Serumsulfat wurden die entsprechenden Werte bei 264 Patienten ermittelt (Tabelle 3). Der Erhöhung der Kreatininkonzentration entspricht ein Anstieg des Sulfatspiegels (Abbildung 6). Zwischen dem Verhalten des Kreatinins und des Sulfats besteht eine lineare Beziehung.

Die Straffheit dieser Beziehung zwischen den beiden Meßgrößen bringt der Korrelationskoeffizient $r = +0,93$ zum Ausdruck. r ist signifikant von Null unterschieden ($P \leq 0,0005$). Die Vertrauensgrenzen für den Korrelationskoeffizienten sind $0,909 \leq r \leq 0,951$. Die Regressionsgerade hat die Steigung $b = 0,27$ ($s_b = 0,007$) und den Achsenabschnitt $a = 0,5$ ($s_a = 0,02$).

Der Achsenabschnitt $a = 0,5$ ist darauf zurückzuführen, daß Sulfat zu 60 - 80 % tubulär rückresorbiert wird, während Kreatinin zusätzlich zur glomerulären Filtration in geringem Maße tubulär sezerniert werden kann. Es müßte also noch Sulfat im Serum sein, wenn kein Kreatinin mehr zu finden wäre.

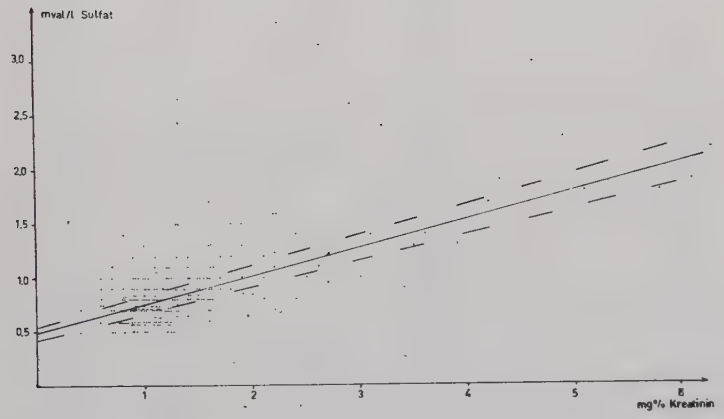

Abb. 6: Beziehung zwischen Serumsulfat und Serumkreatinin

Tab. 3: Parallele Bestimmung von Sulfat, Kreatinin und Harnstoff

Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N	Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N
1,0	0,7	27	1,9	7,1	66
0,8	0,8	21	0,8	0,9	21
0,7	0,9	18	0,7	1,0	13
0,9	0,7	14	1,0	1,9	-
1,0	1,4	22	1,3	3,5	-
0,7	1,0	17	0,6	0,7	-
0,65	1,3	-	0,9	1,1	17
0,6	0,9	10	4,4	16,8	99
1,7	1,6	32	1,0	2,5	16
0,9	0,9	11	0,6	1,2	11
0,7	0,9	17	0,7	1,6	13
0,6	0,9	-	0,8	1,3	17
0,6	1,0	-	0,8	1,4	20
0,85	1,4	-	2,4	3,2	75
0,7	0,9	-	1,5	1,9	-
1,05	1,1	-	0,8	3,4	25
0,85	0,9	-	0,6	0,9	11
1,1	0,7	-	0,7	1,1	15
1,0	1,2	-	1,6	2,2	-
0,9	1,1	-	1,6	2,2	-
0,8	0,9	10	0,7	1,3	-
1,5	6,7	-	0,6	0,8	-
2,4	9,2	72	1,0	1,5	-
0,7	0,8	11	0,7	2,2	-
0,8	1,1	23	6,9	23,4	141
0,65	0,9	12	0,7	1,0	16
0,8	1,1	-	0,6	1,6	15

Fortsetzung Tab. 3

Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N	Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N
1,1	1,6	11	0,6	1,1	20
1,0	1,5	15	0,7	1,6	14
0,7	0,7	12	0,6	1,2	12
0,7	1,1	11	1,0	2,1	25
0,5	0,7	-	1,3	1,0	-
0,85	2,0	23	0,7	0,9	-
0,85	1,4	27	0,8	1,1	20
0,85	1,5	25	1,3	1,9	-
0,6	1,1	17	1,0	1,6	-
0,7	1,2	13	0,8	1,1	16
0,7	1,2	19	0,8	2,4	17
1,1	1,1	16	1,2	1,7	-
0,6	0,9	18	0,6	0,8	15
1,1	1,2	23	0,85	0,9	-
1,9	6,1	45	0,9	1,5	23
0,9	0,8	11	0,8	1,0	14
0,9	0,9	16	0,8	0,8	13
0,9	1,4	22	0,8	1,0	16
0,8	0,9	10	0,8	0,9	13
1,1	1,6	20	1,1	1,3	10
1,0	1,6	20	0,9	1,7	16
0,7	1,0	11	1,0	1,4	15
1,0	1,0	17	0,8	1,1	12
0,9	1,0	18	0,6	1,0	10
1,3	3,9	32	0,5	1,1	12
1,2	2,1	20	1,0	0,9	-
0,9	1,2	19	0,7	1,0	12

Fortsetzung Tab. 3

Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N	Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N
0,8	1,1	17	0,9	0,7	14
1,0	1,0	23	0,7	1,0	16
0,6	1,0	14	0,8	0,8	14
0,7	0,9	11	0,9	1,3	13
0,85	1,0	14	1,0	1,2	20
0,7	1,2	19	0,7	1,0	10
0,8	1,2	-	0,85	1,0	18
1,4	3,6	-	0,7	1,1	13
1,2	2,7	-	0,8	1,0	12
0,9	1,0	15	0,7	0,9	15
1,1	2,2	-	0,6	1,1	-
0,7	0,8	10	0,8	0,9	10
2,3	4,9	46	0,85	1,3	18
1,0	0,9	15	1,8	5,1	36
0,9	1,3	14	1,1	1,4	15
0,8	1,1	16	0,8	1,1	14
0,8	1,3	21	0,7	1,0	25
1,3	1,6	14	0,6	1,2	19
9,3	28,5	162	2,0	7,3	67
1,4	2,4	15	0,8	1,0	16
0,8	0,6	8	0,7	1,2	16
0,8	0,8	11	0,7	1,1	15
0,8	0,7	9	0,6	0,8	6
0,75	0,6	12	0,8	1,3	12
0,75	0,7	16	0,9	1,2	13
0,8	0,9	14	0,8	1,6	14
0,9	1,0	-	0,9	2,7	15

Fortsetzung Tab. 3

Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N	Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N
0,75	0,9	21	1,1	1,6	16
0,8	1,5	-	0,7	1,0	27
0,5	0,8	22	0,8	2,1	24
0,5	0,9	20	0,7	1,1	18
0,6	1,1	25	1,0	3,0	-
0,5	1,0	13	0,9	1,4	15
0,6	1,1	21	1,1	2,6	-
0,65	1,1	16	0,7	1,2	9
0,7	1,2	12	0,6	1,1	18
0,7	1,1	18	0,8	1,1	12
0,55	1,0	18	0,6	1,1	12
0,7	1,3	16	0,8	1,6	13
0,6	0,9	16	0,8	1,6	18
0,75	1,1	16	1,5	1,3	-
2,25	13,2	75	1,5	1,3	-
1,7	4,2	45	1,2	0,9	-
0,7	1,0	-	0,5	0,9	-
0,3	1,2	-	0,8	1,0	-
1,2	1,4	-	1,2	1,8	20
0,6	0,6	12	0,9	1,6	16
1,5	1,8	-	0,6	1,1	-
0,9	1,4	14	0,6	1,2	16
0,7	1,1	-	0,6	1,0	12
1,2	1,1	16	0,5	0,7	13
0,9	0,9	13	1,0	1,5	22
1,0	1,6	14	1,0	0,9	17

Fortsetzung Tab. 3

Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N	Sulfat mval/l	Kreatinin mg%	Harnstoff mg% N
1,0	1,7	-	0,8	0,8	9
0,6	0,9	6	0,6	0,8	15
1,2	1,6	20	0,9	1,2	18
0,7	0,4	-	0,9	1,2	-
0,5	1,2	14	0,7	1,1	22
0,7	0,9	20	0,6	1,1	15
0,7	1,0	16	0,9	1,6	17
0,6	0,9	10	0,6	0,8	15
1,2	2,7	25	0,8	1,5	18
0,9	1,8	22	0,7	1,1	14
0,6	1,2	-	1,0	0,7	12
0,5	0,4	9	0,8	1,1	32
0,5	1,0	15	0,8	1,5	18
1,9	4,3	57	1,4	3,1	22
0,5	1,2	24	3,0	4,6	63
0,9	1,4	-	0,75	1,3	-
0,6	1,0	-	1,0	1,2	11
1,2	2,2	24	0,9	1,5	20
0,5	1,2	13	0,8	1,3	23
1,8	5,8	-	1,0	1,0	-
0,8	1,0	-	1,1	1,2	22
0,8	1,0	16	0,7	1,1	16
0,7	1,1	-	0,6	0,9	11
0,6	1,2	8	4,5	7,8	116
1,4	0,8	12	0,8	1,5	12

4.) Beziehung zwischen Serumharnstoff und Serumsulfat

In der Abbildung 7 sind die Serumkonzentrationen von Serumharnstoff und anorganischem Sulfat von 203 Patienten einander zugeordnet. Auch hier ist eine lineare Beziehung erkennbar. Die Enge dieser Beziehung ist gekennzeichnet durch den Korrelationskoeffizienten $r = 0,929$, der signifikant von Null abweicht ($P \leq 0,0005$). Die Regressionsgerade hat die Steigung $b = 0,042$ ($s_b = 0,0012$) und den Achsenabschnitt $a = 0,107$ ($s_a = 0,034$).

Es besteht somit ein enger (wahrscheinlich nicht nur stochastischer) Zusammenhang zwischen Serumsulfat und Serumkreatinin oder Serumharnstoff. Damit erscheint die Bestimmung des Serumsulfates zur Erkennung einer Niereninsuffizienz als ebenso sinnvoll wie die Bestimmung des Kreatinins oder des Harnstoffs. Sie füllt aber darüber hinaus eine Lücke in der Beurteilung des Serumionogramms. Die sogenannte "Restfraktion" wird kleiner.

Die Bedeutung der Sulfatbestimmung für die Beurteilung der Elektrolytausscheidung in den Harn wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht.

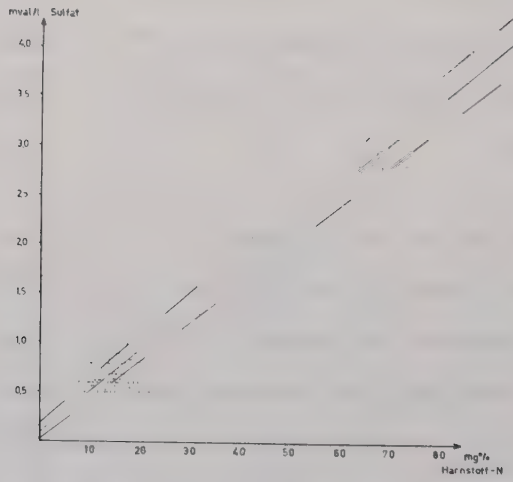

Abb. 7: Beziehung zwischen Serumsulfat und Serumharnstoff

F. ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine einfache automatische Methode zur Bestimmung des anorganischen Sulfats in Serum und Harn beschrieben. Die Methode beruht auf der nephelometrischen Auswertung des in saurer Lösung ausgefällten Bariumsulfats. Die Bariumsulfatsuspension wird durch Gelatine stabilisiert.

Der an 161 Seren mit 0,74 $\pm$ 0,34 (2s) mval/l gefundene Normalwert für die Serumsulfatkonzentration entspricht den von anderen Autoren veröffentlichten Werten.

Die gute Reproduzierbarkeit der Methode (V = 4 % im unteren Meßbereich), ihre Einfachheit (Dauer einer Bestimmung 13 Minuten) und die enge Korrelation mit den Serumharnstoff- und Serumkreatininwerten (r = 0,93) lassen eine breitere Anwendung der Sulfatbestimmung zur Erkennung von Nierenfunktionseinschränkungen sinnvoll erscheinen.

G. LITERATUR

1. BECKER, E. L., HEINEMANN, H. O., IGARASGI, K., HODLER, J. E. and GERSCHBERG, H.: Renal mechanisms for the excretion of inorganic sulfate in man. J. clin. Invest. 39, 1909 (1960)

2. BELCHER, R., NUTTEN, A. J. and STEPHEN, W. I.: Substituted benzidines and related compounds as reagents in analytical chemistry. XII Reagents for the precipitation of sulfate. J. chem. Soc. 1334 (1953)

3. BERGLUND, F. and SÖRBO, B.: Turbidimetric analysis of inorganic sulfate in serum, plasma and urine. Acta chem scand. 13, 2121 (1959)

4. BERGLUND, F. and SÖRBO, B.: Turbidimetric analysis of inorganic sulfate in serum, plasma and urine. Scand. J. clin. Lab. Invest. 12, 147 (1960)

5. CHAKMAKJIAN, Z. H. and BETHUNE, J. E.: Sodium sulfate treatment of hypercalcemia. New Eng. J. Med. 275, 862 (1966)

6. COHEN, J. J., BERGLUND, F. and LOTSPEICH, E. D.: Renal tubular reabsorption of acetoacetate, inorganic sulfate and inorganic phosphate in the dog as affected by glucose and phlorizin. Amer. J. Physiol. 184, 91 (1956)

7. COPE, C. L.: Determination of inorganic sulfate in human blood plasma by microtitration. Biochem. J. 25, 1183 (1931)

8. COPE, C. L.: Inorganic sulphate excretion by human kidney. J. Physiol. (cond.) 76, 329 (1932)

9. CORTELLESSA, G. C. and NAPOLI, C. A.: Potentiometric micro-determination of sulphat ion. Analyst 93, 546 (1968)

10. DENIS, W.: A study of the inorganic constituent of the blood in experimental nephritis. J. Biol. Chem. 56, 473 (1923)

11. DOCUMENTA GEIGY — Wissenschaftliche Tabellen. 6. Aufl. 1960 J. R. Geigy AG. Basel

12. DOEFFEL, K.: — Beurteilung von Analysenverfahren und -Ergebnissen, Springer-Verlag, Berlin 1965

13. DOGSON, S.: — Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymic and non-enzymic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters. Biochem. J. 78, 312 (1961)

14. DZIEWIATKOWSKI, D. D.: — On utilisation of exogenous sulfate sulfur by rat in formation of ethereal sulfates as indicated by use of sodium sulfate labeled with radioactive sulfur. J. Biol. Chem. 178, 197 (1949)

15. GALES, M. E., KAYLOR, W. H. and LONGBOTTOM, J. E.: — Determination of sulphate by automatic colorimetric analysis. Analyst 93, 97 (1968)

16. GOUDSMITH, A. Jr., POWER, M. H. and BOLLMAN, J. L.: — Excretion of sulfates by dog. Am. J. Physiol. 125, 506 (1939)

17. HÄKKINEN, J. T. and HÄKKINEN, L. M.: — Spectrophotometric determination of sulphate in serum and urine with barium chloranilate. J. Clin. Lab. Invest 11, 294 (1959)

18. HÄNZE, S.: — Serumsulfat und Sulfatclearance bei normaler und eingeschränkter Nierenfunktion. Klin. Wo. 44, 1247 (1966)

19. JONES, A. S. and LETHAM, D. S.: — Determination of submicro quantities of sulfate with 4-amino-4'-chlorodiphenyl. Analyst 81, 4 (1956)

20. LOEB and BENEDICT: Inorganic sulfates in human blood. J. Clin. Invest 4, 33 (1927)

21. MACY, J. W.: Significance of inorganic sulfate clearance in renal disease. Proc. Mayo Clin. 8, 643 (1933)

22. MARTIN, I. M. and STEPHEN, W. J.: The nephelometric determination of small amounts of sulphate ion. Anal. Chim. Acta 39, 175 (1967)

23. MERILL, J. P.: The treatment of renal failure New York and London 1955. Sec. ed. 1965

24. PAULSON, S.: Biophysical and physiological investigations in cartilage and other mesenchymal tissues IV. Acta. Chem. Scand. 7, 325 (1953)

25. STURM, A. und POTHMANN, A.: Beiträge zur Kenntnis des Schwefelstoffwechsels. Z. Klin. Med. 137, 467 (1940)

26. SUTHERLAND, J. T.: A disadvantage of barium chloranilate as a reagent for the determination of sulphate in biological fluids. Clin. Chim. Acta 14, 554 (1966)

27. TECHNICON AUTOANALYZER METHODOLOGY: Sulfat VI b,+ Technicon Controls Inc. Chauncey, New York (1966)
+N - 1b Urea Nitrogen N - 10a Micro Urea Nitrogen N - 11b Creatinine

28. TODD-SANFORD: Clinical Diagnosis by Laboratory Methods, J. Davidson and B. B. Wells Eds., W. B. Saunders Comp. Philadelphia, London 1963

29. WAELSCH, H. and KLEPETAR, G.: Gravimetrische Mikrobestimmungen des Schwefels in biologischem Material. Z. physiol. Chem. 211, 47 (1932)

30. WAKEFIELD, E. G., POWER, M. H. and KEITH, N. M.: Significance of serum inorganic sulphates in early renal insufficiancy. J. Am. Med. Ass. 97, 913 (1931)

DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. G. Gundlach schulde ich für die Überlassung des Themas und seine Anleitung besonderen Dank.

Alle erwähnten Kreatinin- und Harnstoffbestimmungen wurden routinemäßig im Labor der Urologischen Klinik, Homburg, durchgeführt. Den daran beteiligten Damen und Herren bin ich ebenfalls zu Dank verpflichtet.

LEBENSLAUF

Am 28. 2. 1945 wurde ich, Werner Barth, als Sohn des Verwaltungsangestellten Georg Barth und seiner Ehefrau Margot, geb. Weisensel, in Bad Neustadt a. d. Saale geboren.

Vom Herbst 1951 bis 1955 besuchte ich in Saarbrücken die Grundschule, dann nacheinander das Staatliche Ludwigsgymnasium, Saarbrücken, das Collegium Josefinum in Bonn und schließlich das Staatliche Wirtschaftsgymnasium in Saarbrücken, wo ich im Februar 1965 das Abitur machte. Im Frühjahr 1965 begann ich an der Universität des Saarlandes das Medizinstudium. Hier legte ich 1967 das Physikum und im Dezember 1970 das Staatsexamen ab.